

PENGARUH KADAR NITRAT TERHADAP PERTUMBUHAN DAN KADAR LIPID MIKROALGA *Melosira* sp. SEBAGAI TAHAP AWAL PRODUKSI BIOFUEL

Dwi Oktaviani¹⁾, Adisyahputra.²⁾, Nilna Amelia³⁾

¹⁾Anggota Peneliti Muda Utama, ²⁾Pengajar Program Studi Biologi FMIPA UNJ,

³⁾Peneliti lab. Alga Pertamina *Research and Development*

Kelompok Peneliti Muda Universitas Negeri Jakarta

Email: dwioktaviani64@gmail.com

ABSTRAK

*Kebutuhan Indonesia di sektor energi semakin meningkat setiap tahunnya, sedangkan energi fosil yang merupakan sumber energi utama semakin menurun. Oleh sebab itu, perlu dilakukan usaha-usaha untuk mencari bahan bakar alternatif untuk memenuhi kebutuhan energi di Indonesia. Indonesia memiliki kekayaan alam, diantaranya mikroalga *Melosira* sp. yang dapat dikembangkan menjadi biofuel karena memiliki asam lemak C:16 (asam palmitat dan asam palmitoleat) yang tinggi. Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa *Melosira* sp. memiliki biomassa yang tinggi, namun kadar lipid nya cukup rendah. Kadar lipid dipengaruhi oleh zat hara, salah satunya yaitu nitrat. Tujuan penelitian ini yaitu untuk menentukan kadar nitrat yang optimal untuk produksi lipid pada mikroalga *Melosira* sp. Penelitian ini dilakukan di laboratorium Alga Pertamina Research and Development Pulogadung, Jakarta, pada bulan Desember 2015 - April 2016, meliputi tahap kultivasi, pemanenan, penghitungan biomassa, ekstraksi dan destilasi. Variasi konsentrasi kadar nitrat pada medium f/2 yaitu 0,88 M (kontrol), 0,58 M, 1,17 M, 1,47 M diberikan di tahap kultivasi pada aquarium. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Parameter yang diamati: kurva pertumbuhan, laju pertumbuhan, biomassa dan kadar lipid. Hasil penelitian menunjukkan laju pertumbuhan dan biomassa tertinggi didapatkan dari perlakuan dengan kadar nitrat 1,47 M, hal ini dikarenakan nitrat pada kultur dapat dimanfaatkan secara optimal untuk pembentukan biomassa melalui proses fotosintesis. Sedangkan kadar lipid tertinggi didapatkan dari perlakuan dengan kadar nitrat 0,58 M. Stress nitrat menyebabkan akumulasi lipid, sehingga kadar lipid tertinggi diperoleh dari kadar nitrat terendah yaitu 0,58 M.*

Kata Kunci

Melosira sp., energi terbarukan, solusi krisis energi Indonesia, nitrat.

ABSTRACT

Indonesia needs in the energy sector is increasing every year, while fossil fuels are the main energy source decreases. Therefore, there should be efforts to find alternative fuels to compelte Indonesia needs in energy. Indonesia has natural resources, such as microalgae *Melosira* sp. which can be developed into a biofuel because the fatty acids C:16 (palmitic acid and acid palmioleat) are high. Previous research has suggested that *Melosira* sp has a high biomass, but low lipid levels. Lipid levels are influenced by nutrients, one of which is nitrogen. The aim of this research was to determine optimum nitrate levels for growth and lipid level of *Melosira* sp. This research was conducted in the Algae laboratory of Pertamina Research and Development Pulogadung, Jakarta, in December 2015-April 2016, includes the step of cultivation, harvesting, calculating biomass, extraction and distillation. Variations in the concentration of nitrate levels in medium f/2 is 0,88 M (control), 0,58 M, 1,17 M, 1,47 M given at the stage of cultivation in the aquarium. This study uses a completely randomized design (CRD). Parameter observed: the growth curve, growth rate, biomass and lipid levels. The results showed the highest growth rate obtained from the treatment with nitrate levels 1,17 M and 1,47 M. Highest biomass growth rate obtained from the treatment with nitrate levels 1,47 M. This is because the nitrate in the culture can be optimally used for the formation of biomass through photosynthesis. While the highest lipid levels obtained from the treatment with nitrate levels 0,58 M.

Keywords: *Melosira* sp., renewable energy, Indonesia critical energy solution, nitrate.

PENDAHULUAN

Kebutuhan Indonesia di sektor energi terus meningkat setiap tahunnya, sedangkan energi fosil yang merupakan sumber energi utama terus menurun. Oleh sebab itu, perlu dilakukan usaha untuk mencari bahan bakar alternatif (Sharma, 2008). Pemerintah melalui Inpres Nomor 1 Tahun 2006 telah mencangkan untuk mencari sumber bahan bakar pengganti terbarukan dari biomassa organisme (bioenergi). Sejauh ini, sumber daya alam yang sudah dimanfaatkan untuk dijadikan *biofuel* yakni tanaman kelapa sawit, jarak pagar dan jagung (Pienkos, 2007). Namun, dalam budidaya tanaman tersebut dibutuhkan lahan yang luas, waktu panen

yang lama dan juga beririsan dengan kepentingan pangan.

Di sisi lain, Indonesia memiliki kekayaan sumber daya alam laut yaitu mikroalga. Budidaya mikroalga tidak membutuhkan lahan yang luas, tidak memerlukan waktu panen yang lama dan juga tidak beririsan dengan kepentingan di sektor pangan. Salah satu mikroalga yang berpotensi dikembangkan sebagai bahan bioenergi ialah *Melosira* sp. karena mengandung asam lemak C:16 (asam palmitat dan asam palmioleat) yang tingi yaitu sebesar 46% dan 32%. Namun, berdasarkan penelitian sebelumnya diatom *Melosira* sp. yang diisolasi dari perairan estuaria Timika

dilaporkan mengandung lipid yang cukup rendah, akan tetapi biomasanya 13 kali lipat dari bimoassa *Chaetoceros gracilis* (Panggabean dan Sutomo, 2012).

Kadar lipid pada mikroalga berkaitan dengan kadar unsur hara yang diberikan. Unsur hara yang berpengaruh terhadap kadar lipid dan pertumbuhan mikroalga yaitu nitrat. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk melihat pengaruh variasi konsentrasi nitrogen terhadap pertumbuhan, pembentukan biomassa, maupun kandungan esensial mikroalga. Pada *Spirulina fusiformis*, penurunan konsentrasi nitrogen memberikan dampak berupa penurunan pembentukan biomassa, penurunan kandungan protein dan penurunan kandungan klorofil (Chrismadha *et al.*, 2006). Penurunan kandungan nitrogen pada *Chlorella pyrenoidosa* memberikan dampak berupa penurunan pembentukan biomassa tetapi menaikkan kandungan lipidnya (Nigam *et al.*, 2011).

Nitrogen diperlukan dalam proses fotosintesis yang melibatkan klorofil sebagai komponen utamanya, sehingga berpengaruh pada biomassa yang dihasilkan mikroalga. Namun, kadar nitrogen yang terlalu rendah dapat menyebabkan protein terpecah menjadi asam amino yang kemudian membentuk asetil-koA sehingga dapat menyebabkan meningkatnya kadar lipid (Colby, 1988; Widianingsih *et al.*, 2008).

Sejauh ini belum dilakukan penelitian mengenai pengaruh kadar nitrat terhadap pertumbuhan *Melosira* sp. Oleh sebab itu, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kadar nitrat optimal untuk pembentukan biomassa dan lipid pada mikroalga *Melosira* sp. sebagai bahan utama pembuatan *biofuel*.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan

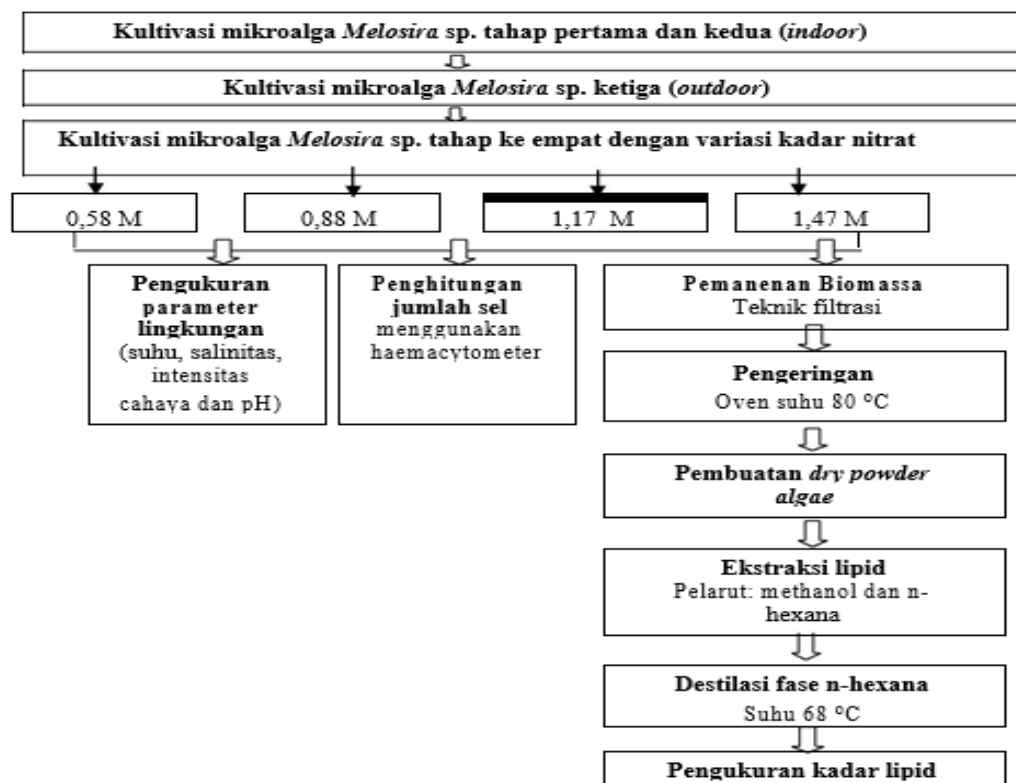
dalam penelitian ini yaitu eksperimen, dengan rancangan acak lengkap (RAL).

Prosedur Penelitian

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu mikroskop Olympus, *haemocytometer*, *hand counter*, destilator, ultrasonik, peralatan gelas, oven, aquarium, lampu neon, *air stone*, *air pump*, selang, pH meter, lux meter, salinometer, membran penyaring dan filter air. Bahan yang digunakan yaitu kultur murni *Melosira* sp. Air laut, pelarut n-hexana, methanol, medium f/2 dan aquadest.

Skema Penelitian



Gambar 1. Skema Penelitian

Teknik Pengumpulan Data

Parameter yang diukur dalam penelitian ini adalah kurva pertumbuhan *Melosira* sp., laju pertumbuhan *Melosira* sp., biomassa mikroalga *Melosira* sp. dan kadar lipid (volume lipid akhir destilasi).

Teknik Analisis Data

Data kuantitatif yang berupa laju pertumbuhan, biomassa dan kadar lipid dari empat variasi kadar nitrat dengan pengulangan masing-masing tiga kali pengulangan, akan diolah menggunakan teknik analisis data ANOVA (*Analysis of Variance*) 1 arah (*one-way*) pada $\alpha =$

0,05, yang dilanjutkan dengan uji Duncan pada $\alpha = 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pertumbuhan Sel Mikroalga *Melosira* sp.

1) Dekripsi Morfologi, Kurva Pertumbuhan dan Laju Pertumbuhan *Melosira* sp.

Pertumbuhan mikroalga *Melosira* sp. diamati dengan menggunakan *haemocytometer* dibawah mikroskop DSX olympus. Berikut gambar sel *Melosira* sp. yang diamati setiap 1x24 jam



Gambar 2. Pengamatan sel *Melosira* sp. di bawah mikroskop DSX. Perbesaran 10 x 10 (A), Perbesaran 40 x 10 (B), Terminal *auxospore* (i), *Mucilage* (ii), *Pseudoculcus* (iii), Pengamatan pada *chamber* hitung (D).

Melosira sp. memiliki warna cokelat tua, hidup berkoloni dan merupakan uniselular. Ciri khas yang dimiliki oleh diatom yaitu dinding selnya terdiri atas silikat. Silikat merupakan unsur penting dalam pembentukan dinding seldan cangkang bagi kelompok diatom (Endar, 2012). Pembentukan dinding sel pada *diatom* berfungsi sebagai ketahanan terhadap lingkungan. Menurut Arinardi *et al.* (1994) ciri khas diatom ditunjukkan dengan adanya pahatan tertentu pada dinding selnya yang terdiri dari silikat, sehingga memiliki ketahanan yang tinggi terhadap tekanan lingkungan.

Berdasarkan hasil pengamatan dengan mikroskop, Sel *Melosira* sp. berbentuk silinder memiliki diameter $\pm 19 \mu\text{m}$. Luas permukaan $\pm 283 \mu\text{m}^2$. Ciri khas yang dimiliki oleh genus *Melosira*

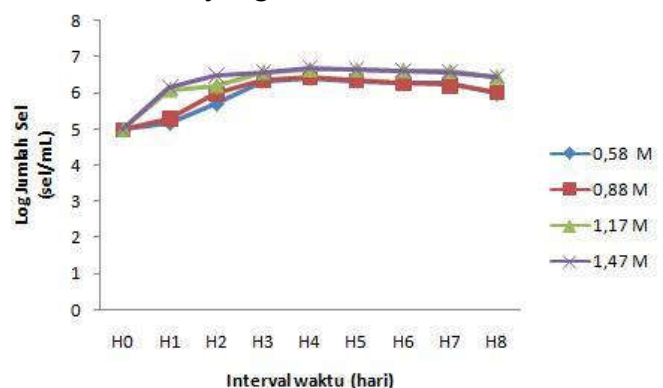
yaitu selnya berpasangan (2 sel) dan diantara pasangan satu dengan yang lainnya dibatasi oleh bantalan lendir (*mucilage*) (gambar 2.ii). Menurut Round *et al.* (1990) mekanisme pergerakan diatom disertai dengan sekresi lendir (*mucilage*) ke dalam *raphe* (celah yang menembus dinding yang mengandung silika). *Mucilage* mengandung polisakarida sulfat.

Melosira sp. berkembangbiak dengan menggunakan *auxospore* (gambar 2. i). *Auxospore* merupakan spora reproduksi pada diatom yang dibentuk oleh penyatuan dua sel (Round *et al.*, 1990).

Perhitungan sel *Melosira* sp. pada kamar hitung (kotak 16) di kedua *chamber* (atas dan bawah). Perhitungan dilakukan setiap 1x24 jam. Hasil pengamatan pada kedua *chamber* (*chamber* 1 dan *chamber* 2) dihitung menggunakan rumus Hansen (2000):

$$\text{Jumlah Sel/ml} = \frac{\text{Jumlah sel chamber 1} + \text{chamber 2}}{2} \times 5 \times 10.000$$

Berikut kurva pertumbuhan mikroalga *Melosira* sp. pada variasi kadar nitrat yang berbeda



Gambar 3. Kurva Pertumbuhan *Melosira* sp. pada Kadar Nitrat yang Berbeda

Berdasarkan kurva diatas, dapat diketahui bahwa pola pertumbuhan *Melosira* sp. perlakuan kadar nitrat 0,58

M dan 0,88 M memiliki empat fase pertumbuhan, yaitu fase lag, fase eksponensial, fase stasioner, dan fase kematian. Sedangkan, perlakuan kadar nitrat 1,17 M dan 1,47 M, memiliki tiga fase pertumbuhan, yaitu fase eksponensial, fase stasioner, dan fase kematian. Perbedaan ini disebabkan jumlah nutrisi yang terdapat pada setiap kultur berbeda, sehingga pertumbuhan sel pada setiap kultur akan berbeda pula. Pada saat mikroalga dapat mengonsumsi nutrisi dalam media tumbuh secara optimal, maka mikroalga tersebut memasuki fase eksponensial dengan menghasilkan warna kultur lebih pekat seiring dengan meningkatnya kepadatan sel kultur (Pranayogi, 2003). Tidak adanya fase lag pada perlakuan kadar nitrat 1,17 M dan 1,47 M, juga dapat dijelaskan bahwa pertumbuhan mikroalga di dalam kultur biasanya tidak mengalami fase lag bila kondisi lingkungannya sudah sesuai dengan lingkungan sebelumnya (Panggabean dan Sutomo, 2000).

Fase eksponensial terjadi pada H1-H4, dengan jumlah sel yang berbeda-beda pada perlakuan kadar nitrat 1,17 M dan 1,47 M. Kultur *Melosira* sp. mengalami pertumbuhan logaritmik selama 4 hari (Panggabean dan Sutomo, 2012). Sedangkan, pada 0,88M fase eksponensial terjadi pada H2-H4. Kemudian memasuki fase stasioner pada hari ke 5 sampai dengan hari ke-7. Menurut Setyaningsih *et al.*, (2008), fase stasioner merupakan fase pertumbuhan yang konstan karena nutrisi semakin berkurang dan populasi semakin padat. Pada hari ke-8 memasuki fase *death* (kematian).

Perbedaan jumlah sel pada setiap perlakuan mengakibatkan perbedaan laju pertumbuhan (*growth rate*), penghitungan laju pertumbuhan pada penelitian ini menggunakan rumus Fogg (1965). Berdasarkan hasil pengamatan

kurva pertumbuhan, diketahui bahwa t_1 (waktu pertumbuhan akhir) selama 4 hari yaitu saat pertumbuhan logaritmik (fase eksponensial). Sedangkan N_1 (jumlah sel akhir) yaitu jumlah sel pada hari ke-4 (H4) sebagai akhir fase eksponensial, karena pada hari ke-5 jumlah sel mengalami penurunan. Sehingga dapat didefinisikan bahwa hari ke-5 telah memasuki fase stasioner. Adapun laju pertumbuhan sel *Melosira* sp. pada tiap perlakuan kadar nitrat dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 1. Laju Pertumbuhan (k) *Melosira* sp. pada Kadar Nitrat yang Berbeda

| Perlakuan | Rerata Laju Perumbuhan (pembelahan/hari) \pm SE |
|-----------|---|
| 0,58 M | 0,349 ^a \pm 0,009 |
| 0,88 M | 0,355 ^a \pm 0,008 |
| 1,17 M | 0,410 ^b \pm 0,008 |
| 1,47 M | 0,423 ^b \pm 0,004 |

Ket: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada $\alpha=0,05$ uji Duncan

Berdasarkan tabel 1. dapat diketahui bahwa laju pertumbuhan tertinggi yaitu 0,423 pada perlakuan 1,47M. Semakin tinggi kadar nitrat, maka semakin tinggi pula laju pertumbuhan (k) *Melosira* sp. Hal ini dikarenakan suplai nitrat sebagai makronutrien yang lebih tinggi dapat dimanfaatkan sebagai unsur pembangun struktur klorofil dan pembangun struktur protein. sehingga pembelahan sel dan fotosintesis yang terjadi lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan kadar nitrat 0,58 M; 0,88M; 1,17M. Jumlah protein dalam bentuk enzim yang banyak akan membantu proses pengangkutan

menjadi lebih cepat, sehingga biomassa yang merupakan hasil fotosintesis dapat terakumulasi lebih banyak. Penelitian yang dilakukan oleh Burbell dan Phillips (1925) menunjukkan hasil yang sama yaitu pada pemberian nitrat yang berlebih pada medium kultur mikroalga menyebabkan pertumbuhan mikroalga 2 kali lebih cepat.

Laju pertumbuhan (*growth rate*) berbanding lurus dengan biomassa mikroalga karena dengan laju pertumbuhan yang optimal akan menghasilkan biomassa yang optimal pula.

Mikroalga yang mempunyai pertumbuhan baik akan lebih aktif mengkonversi CO₂ menjadi biomassa sehingga produktivitas biomassa menjadi tinggi (Setiawan *et al.*, 2008).

B. Biomassa *Melosira* sp.

Tabel 2. Rerata Biomassa *Melosira* sp. pada Perlakuan Kadar Nitrat yang Berbeda (gr)

| Perlakuan Kadar Nitrat | Rerata Biomassa (gr) \pm SE |
|------------------------|-------------------------------|
| 0,58 M | 8,33 ^a \pm 0,33 |
| 0,88 M | 8,67 ^a \pm 0,67 |
| 1,17 M | 8,67 ^a \pm 0,33 |
| 1,47 M | 11,67 ^b \pm 0,33 |

Ket: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada $\alpha=0,05$ uji Duncan.

Berdasarkan tabel 2, diketahui bahwa biomassa tertinggi diperoleh pada perlakuan kadar nitrat 1,47M. Pembentukan biomassa berkaitan dengan aktivitas fotosintesis oleh klorofil dan sintesis klorofil-a dapat berlangsung

dengan ketersediaan N yang cukup. Nitrogen dibutuhkan sebagai elemen-elemen penyusun protein dan klorofil (Berg *et al.*, 2002). Semakin tinggi kadar nitrat, maka pembentukan klorofil pada *Melosira* sp. semakin tinggi, sehingga memicu pertumbuhan biomassa.

Nitrat sebagai sumber nitrogen anorganik yang paling umum digunakan oleh mikroalga termasuk *Melosira* sp. tidak dapat digunakan secara langsung dalam proses metabolisme selnya. Mula-mula nitrat akan direduksi terlebih dahulu menjadi nitrit yang dikatalis oleh enzim reduktase (NaR), kemudian dilanjutkan oleh reduksi nitrit menjadi ammonium oleh enzim nitrit reduktase (NiR) sebagai katalisatornya. Selanjutnya nitrogen dalam bentuk ammonium inilah yang akan digunakan sebagai bahan pembentuk makromolekul sel (Salisbury dan Ross, 1992).

Rendahnya biomassa yang dihasilkan pada perlakuan pemberian kadar nitrat 0,58 M diduga disebabkan oleh peristiwa dinamika penggantian sel-sel klorofil yang rusak akibat fotooksidasi, melibatkan asam-asam amino dan enzim-enzim yang mengandung N (Borowitzka dan Moheimani, 2013). Apabila terjadi defisiensi N pada mikroalga proses penggantian tersebut akan terhambat dan mengakibatkan kekurangan pigmen fotosintetik klorofil dan fikobilin yang mengandung N (Dennis dan Turpin, 1997).

C. Kadar Lipid

Tabel 3. Rerata Kadar Lipid *Melosira* sp. pada Perlakuan Kadar Nitrat yang Berbeda (gr)

| Perlakuan Kadar Nitrat | Rerata Kadar Lipid (%) \pm SE |
|------------------------|---------------------------------|
| 1,47 M | 6,22 ^a \pm 0,19 |

| | |
|--------|---------------------------|
| 1,17 M | 6,47 ^a ± 0,86 |
| 0,88 M | 7,66 ^b ± 0,99 |
| 0,58 M | 11,86 ^c ± 0,15 |

Ket: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada $\alpha=0,05$ uji Duncan.

Kadar lipid tertinggi diperoleh pada perlakuan kadar nitrat yang terendah yaitu 0,58 M, hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Panggabeh, 2012 namun pada jenis mikroalga yang berbeda. Kondisi stress kekurangan N menyebabkan terganggunya sintesis membran lipid yang mengandung komponen asam-asam lemak tidak jenuh dan menyebabkan terjadinya akumulasi asam-asam lemak netral cadangan dalam sel dalam bentuk triacylglycerol (TAG) pada alga (Hu *et al.*, 2008). Akumulasi asam lemak inilah yang diinginkan dalam aplikasi mikroalga sebagai sumber bahan alternatif pengganti bahan bakar fosil.

Nitrat (NO_3^-) adalah bentuk utama nitrogen di perairan alami dan merupakan nutrient utama bagi pertumbuhan tanaman dan alga. Nitrat digunakan oleh mikroalga untuk melangsungkan metabolisme dan bereproduksi (Bergman 1999; Bagus Ida 2015). Kandungan lipid dalam mikroalga biasanya dalam bentuk gliserol dan asam lemak. Akumulasi lipid biasanya terjadi dalam periode tekanan lingkungan, termasuk dalam kondisi kekurangan nutrisi ketika masa pertumbuhan. Dalam beberapa kasus, senyawa lipid bisa ditingkatkan dengan melakukan pemiskinan nitrogen dengan faktor tekanan yang lain (Kawaroe *et al.*, 2010). Mikroalga memiliki sistem metabolisme yang ada di protoplasma, pada konsentrasi nitrogen rendah seluruh alga memiliki kandungan dan produktivitas yang tinggi, sebaliknya pada konsentrasi nitrat yang tinggi kandungan produktivitas lipidnya rendah. Hal ini

sesuai dengan pendapat Borowitzka (1988) yang menyatakan bahwa pada konsentrasi nitrogen yang rendah, mikroalga mengandung banyak lipid. Kimball (1991) berpendapat bahwa ada hubungan metabolisme antara karbohidrat, protein dan lemak yaitu kompetisi asetil ko-A, yang merupakan *precursor* pada beragam jalur biosintesis seperti lemak, protein dan karbohidrat.

Kadar nitrat 0,58 M dibawah standar kadar nitrat pada medium f/2 yaitu 0,88 M, sehingga dapat diartikan bahwa pada kondisi tersebut mikroalga berada dalam stress lingkungan. Pada kondisi ini, mikroalga akan cenderung membentuk lipid sebagai cadangan makanan daripada membentuk karbohidrat dan senyawa lainnya. Hal ini disebabkan karena mikroalga lebih banyak menggunakan atom karbon untuk membentuk lipid daripada karbohidrat, sebagai akibat meningkatnya aktifitas enzim asetil ko-A karboksilase (Sheehan *et al.*, 1998). Berikut gambar destilat lipid.



Gambar 4. Destilat lipid *Melosira* sp. kadar nitrat: 0,58 M ulangan ke-1 (A); 0,58 M ulangan ke-2 (B); 0,58 M ulangan ke-3 (C); 0,88 M ulangan ke-1 (D); 0,88 M ulangan ke-2 (E); 0,88 M ulangan ke-3 (F); 1,17 M ulangan ke-1 (G); 1,17 M ulangan ke-2 (H); 1,17 M ulangan ke-3 (I); 1,47 M ulangan ke-1 (J); 1,47 M ulangan ke-2 (K); 1,47 M

ulangan ke-3 (L).

D. Pengaruh Kadar Nitrat terhadap Laju Pertumbuhan, Biomassa dan Kadar Lipid *Melosira* sp.

Tabel 4. Rerata Laju Pertumbuhan, Biomassa dan Kadar Lipid *Melosira* sp. pada Kadar Nitrat yang Berbeda

| Kadar Nitrat (M) | Laju Pertumbuhan (pembelahan/hari) \pm SE | Biomassa (gr) \pm SE | Kadar Lipid (%) \pm SE |
|------------------|---|-------------------------------|-------------------------------|
| 0,58 | 0,349 ^a \pm 0,009 | 8,33 ^a \pm 0,33 | 11,86 ^c \pm 0,15 |
| 0,88 | 0,355 ^a \pm 0,008 | 8,67 ^a \pm 0,67 | 7,66 ^b \pm 0,99 |
| 1,17 | 0,410 ^b \pm 0,008 | 8,67 ^a \pm 0,33 | 6,47 ^a \pm 0,86 |
| 1,47 | 0,423 ^b \pm 0,004 | 11,67 ^b \pm 0,33 | 6,22 ^a \pm 0,19 |

Ket: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada $\alpha=0,05$ uji Duncan

Berdasarkan data di atas dapat diketahui bahwa semakin tinggi kadar nitrat yang diberikan pada kultur *Melosira* sp., maka semakin tinggi pula laju pertumbuhan dan biomassa *Melosira* sp. Namun, semakin tinggi kadar nitrat yang diberikan pada kultur *Melosira* sp., kadar lipid yang dihasilkan semakin rendah. Hal ini dapat dijelaskan bahwa kadar nitrat 1,17 M merupakan batas kritis pertumbuhan vegetatif, karena pada kadar nitrat yang lebih tinggi, yaitu 1,47 M, laju pertumbuhan (*growth rate*) mikroalga *Melosira* sp. tidak berbeda jauh dengan 1,17 M. ketika organisme fotosintetik memasuki masa vegetatif, maka organisme tersebut sangat membutuhkan unsur hara N, sehingga saat itu unsur hara N berperan vital bagi organisme tersebut. Unsur hara ini memiliki fungsi mensintesis klorofil yang kemudian digunakan organisme fotosintetik untuk fotosintesis (Bojovic, 2009).

Semakin tinggi kadar nitrat, biomassa juga semakin tinggi, namun, kadar lipidnya justru rendah. Hal ini dapat dijelaskan bahwa pada saat mikroalga dikultur pada kondisi *stress* nutrien, proses metabolismenya akan terganggu, yaitu adanya kompetisi antara pembentukan biomassa dan TGA melalui

proses asimilasi fotosintesis dan mengubah jalur metabolisme untuk menstimulasi biosintesis lipid. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Fakhry dan Maghraby, 2015 yaitu terdapat korelasi terbalik antara kadar nitrat yang diberikan pada kultur *Nannochloropsis salina* dengan kadar lipid yang diproduksinya.

Kondisi *stress* nutrien memungkinkan senyawa piruvat yang dihasilkan dari proses glikolisis akan dikonversi menjadi asetil ko-A oleh kompleks enzim piruvat dehidrogenase yang terdapat di plastida. Asetil ko-A yang dihasilkan dari piruvat selanjutnya diaktifkan menjadi malonil ko-A yang dikatalis oleh kompleks enzim asetil ko-A karboksilase. Malonil ko-A menyusun donor karbon untuk masing-masing siklus lintasan biosintesis asam lemak. Asam lemak dihasilkan melalui kompleks multi subunit yang tersusun oleh enzim fatty acid synthase. Asam lemak yang telah dihasilkan kemudian diaktivasi untuk menggabungkan asam lemak tersebut ke membran lipid (Campbell, 2008). Akumulasi lipid saat mikroalga berada pada kondisi nitrat yang rendah distimulasi oleh enzim isocitrate dehydrogenase (Spolaore *et al.*, 2006).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa:

1. Terdapat perbedaan laju pertumbuhan pada setiap perlakuan (terima H1), hasil yang menunjukkan signifikan (*significant*) yaitu pada perlakuan kadar nitrat 1,47 M.
2. Terdapat perbedaan bobot biomassa pada setiap perlakuan (terima H1), hasil yang menunjukkan signifikansi tinggi (*highly significant*) yaitu pada perlakuan kadar nitrat 1,47 M.
3. Terdapat perbedaan kadar lipid pada setiap perlakuan (terima H1), hasil yang menunjukkan signifikansi tinggi (*highly significant*) yaitu pada perlakuan kadar nitrat 0,58 M

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, D. R. N. 2013. *Efek Temperatur terhadap Pertumbuhan Gracilaria verrucosa*. Skripsi. Jember: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.
- Arinardi, O. H, Trimaningsih dan Sudirdjo. 1994. *Pengantar tentang Plankton serta Kisaran Kelimpahan dan Plankton Predominan di Sekitar Pulau Jawa dan Bali*. Jakarta: Puslitbang Oseanologi-LIPI
- Bagus, Ida Gede Brahmantara. 2015. *Pengaruh Konsentrasi Penambahan Sodium Nitrat dan Sodium Fosfat pada Media Guillard terhadap Konsentrasi Biomassa Dan Lemak Mikroalga. Nannochloropsis sp.* Skripsi. Bali: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana.
- Bahrens, P.W. 2005. *Photobioreactors and Fermentors: The Light and Dark Sides of Growing Algae*. In: R.A. Anderson (Ed.). *Algal Culturing Techniques Elsevier Acad*: 189-203.
- Balai Budidaya Laut. 2002. *Budidaya Fitoplankton dan Zooplankton*. Balai Budidaya Lampung. Dirjen Budidaya. Kementerian Kelautan dan Perikanan: 13–55.
- Berg, J.M.; Tymoczko, J.L.; and Stryer, L. 2002. *Biochemistry 5th Edition*. WHFreeman: 108-109.
- Bligh, EG & Dyer WJ. 1959. *A Rapid Method for Total Lipid Extraction and Purification*. *Biochem Physiol*.37: 911-917.
- Bojovic, B., dan A. Markovic. 2009. *Correlation Between Nitrogen Content and Chlorophyll Content in Wheat*. *Kragujevac Journal Sci*. 31: 69-74.
- Borowitzka, M.A. 1988. *Algal Growth Media And Sources Of Algal Cultures*. In : Borowitzka, M.A & L.J Borowitzka (Eds) *Microalga Biotechnology*. Cambridge: Cambridge University Press: 456-465.
- Borowitzka, Michael A., Moheimani, Navid Reza (Eds.). 2013. *Algae for Biofuels and Energy*. New York: Springer.
- Burrell, R.C dan T.G. Phillips. 1925. *The Determinations of Nitrate Nitrogen in Plants*. *Journal of Biological Chemistry*. 65: 229-234.
- Chrimadha, T, Panggabean, LM, & Mardiaty, Y. 2006. *Pengaruh Konsentrasi Nitrogen dan Fosfor terhadap Pertumbuhan, Kandungan Protein, Karbohidrat dan Fikosianin pada Kultur Spirulina fusiformis*, *Berita Biologi*. 8: 163-169.
- Colby, DS.1988. *Biokimia*. Alih Bahasa: Adji Dharma, EGC, Jakarta.
- Dennis, D.T. dan D.H. Turpin. 1997. *Plant Metabolism*. Singapore: Addison Wesley Longman Singapore Ltd.

- Dwidjoseputro, D. 1978. *Pengantar Fisiologi Tumbuhan*. PT Gramedia, Jakarta.
- Endar, Vivi Herawati *et al.* 2012. Pengaruh Penggunaan Dua Jenis Media Kultur Teknis yang Berbeda terhadap Pola Pertumbuhan, Kandungan Protein dan Asam Lemak Omega 3 EPA (*Chaetoceros gracilis*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 1: 221-235.
- Ernest, 2012. Pengaruh Kandungan Ion Nitrat terhadap Pertumbuhan *Nannochloropsis* sp. *Skripsi*. Depok: Universitas Indonesia.
- Fogg, G. E. 1987. *Algal Cultures and Phytoplankton Ecology*. London: The University of Wisconsin Press, Ltd.
- Ghosh, M dan J. P. Gaur. 1998. Current Velocity and Establishment of Stream Algal Periphyton Communities. *Aquatic Botany*. 60:1-10.
- Gomez, Kwanchai dan Gomez, Arturo. 1984. *Statistical Procedures for Agricultural Research*. US: A Wiley-Interscience Publication.
- Grima, E.M., Belarbi, F.G.A., Medina, A.R., Chisti, Y. 2003. Recovery of Microalgal Biomass and Metabolites :Process Options and Economics. *Biotechnol Adv.* 20: 491-515.
- Gross J. 1991. *Pigments in Vegetables, Chlorophylls and Carotenoids*. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Guillard, R.R.L. 1975. *Culture of Phytoplankton for Feeding Marine Invertebrates*. pp 26-60. In Smith W.L. and Chanley M.H (Eds.) *Culture of Marine Invertebrate Animals*. Plenum Press, New York, USA.
- Hansen. 2000. *Laboratory Procedures "Hemocytometer"*. University of Florida.
- Harahap, PS, Susanto, AB, Susilaningsih, D, dan Delicia, YR. 2013. Pengaruh Substitusi Limbah Cair Tahu untuk Menstimulasi Pembentukan Lipida pada *Chlorella* sp. *Marine Research*. 2: 80-86.
- Harun, R., Singh, M., Forde, G.M., Danquah, M.K. 2010. Bioprocess Engineering of Microalgae to Produce a Variety of Consumer Products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 14: 1037-1047.
- Hu Q, *et al.* 2008. Microalgal Triacylglycerols as Feedstocks for Biofuel Production: Perspectives and Advances. *Plant J.* 54: 621-639.
- Hu, H dan Gao, K. 2006. Response of Growth and Fatty Acid Compositions of *Nannochloropsis* sp. to Environmental Factors Under Elevated CO2 Concentration. *Biotechnology Letters*. 28: 987-992.
- Instruksi Presiden Republik Indonesia Nomor 1 Tahun 2006 Tentang Penyediaan dan Pemanfaatan Bahan Bakar Nabati (*Biofuel*) sebagai Bahan Bakar Lain.
- Jones, *et al.* 2012. Extraction of Algal Lipids and Their Analysis by HPLC and Mass Spectrometry. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 89: 1371-1381
- Kawaroe *et al.* 2010. *Mikroalga Potensi dan Pemanfaatannya untuk Produksi Bio Bahan Bakar*. Bogor: IPB Press.
- Kimball, J.W. 1991. *Biologi*. Erlangga. Jakarta
- Kuhl, A. 1974. Phosphorus. In Stewart, W.D.P. (Ed.) *Algal Physiology and Biochemistry*. Blackwell Scien: 610-654.

- Kurniawan H, Gunarto L. 1999. Aspek Industri Sistem Kultivasi Sel Mikroalga Imobil. *Jurnal Tinjauan Ilmiah Riset Biologi dan Bioteknologi Pertanian*. 2: 2.
- Lakitan, B. 2011. *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Lavens, P. And P. Sorgeloos. 1996. Manual on The Production and Used of Live Food for Aquaculture. *FAO Fisheries Technical Paper*: 361.
- Medina, Robles A., E. Molina Grima, A. Gimenez Gimenez, and M. J. Ibanez Gonzalez. 1998. Downstream Processing of Algal Polyunsaturated Fatty Acids. *Biotechnology Advances*. 16: 517-580.
- Melosira* sp.; Structure. <http://cfb.unh.edu>. 2013. Diakses pada Juli 2015.
- Meng, Chen. *et al.* 2011. Effect of Nutrients and Growth and Lipid Accumulation in the Green Algae *Dunaliella tertiolecta*. *Bioresource Technology*. 102: 1649-1655.
- Muntsji, A.R. 1972. Beberapa Aspek Biologi Rumput Laut. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor Fakultas Pertanian.
- Nicholls, R.E. 1993. *Hidroponik Tanaman Tanpa Tanah*. Semarang: Dahara Prize: 85-86.
- Nigam, Subhasha., Monika PR., & Sharma R. 2011. Effect of Nitrogen on Growth and Lipid Content of *Chlorella pyrenoidosa*. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*. 7: 126-131.
- Nybakken, J., W. 1992. *Biologi Laut; Suatu Pendekatan Ekologis*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Odum, E. P. 1971. *Fundamentals of Ecology*. Philadelphia: W.B. Saunders Company Ltd.
- Panggabean & Sutomo. 2000. Morfologi dan Reproduksi *Melosira* sp. *Pros. Sem. Nas. Biologi XVI*, Kampus ITB Bandung: 388-393.
- Panggabean Maria Lily Goretti dan Sutomo. 2012. Pertumbuhan Biomasa, Klorofil-A, Asam Lemak Mikroalga *Melosira* sp. *Puslit Oseanografi & Puslit Limnologi, LIPI*. 38: 105-113.
- Patil NB, Gajbhiye M, Ahiwale SS, Gunjal AB, Kapadnis BP. 2011. Optimization of indole 3-acetic acid (IAA) production by *Acetobacter diazotrophicus* L1 isolated from sugarcane. *J. Environ Sci*. 2: 307-314.
- Pescod, M.B. 1973. *Investigation of Rational Effluent and Stream Standard for Tropical Countries*. Bangkok: AIT.
- Pienkos, Philip T. and Al Darzins. 2009. The Promise and Challenges of Microalgal-Derived Biofuels. *Journal Biofpr*. 3: 431-440.
- Pranayogi, D. 2003. *Studi Potensi Pigmen Klorofil dan Karotenoid dari Mikroalga Jenis Chlophyceae*. Lampung: Universitas Lampung.
- Rawat, I., Ranjith Kumar, R., Mutanda, T., and Bux, F. 2013. Biodiesel from Microalgae: A Critical Evaluation From Laboratory To Large Scale Production. *Appl. Energy*: 444-467.
- Raymond, V. 1976. *Plankton and Productivity in the Ocean*. UK: Pergamon Pers Ltd
- Romimohtarto, K., dan Juwana, S. 2001. *Pengelolaan Sumberdaya Wilayah Pesisir Secara Berkelanjutan*. Jakarta: Djambatan
- Round *et al.* Press. 1990. *Diatoms: Biology and Morphology of the Genera*. UK: Cambridge University.

- Round, F.E. 1973. *The Biology Of Algae*. London : Edward Arnold: 278.
- Salisbury, F. B dan C.W. Ross. 1992. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 3*. Terjemahanoleh Diah R. Lukman dan Sumaryono, 1995. Bandung: ITB-Press.
- Sarief, E. S. 1986. *Ilmu TanahPertanian*. Bandung: Pustaka Buana: 157.
- Schuman dan Howarth. 1986. Diatoms as Indicator of Pollution. Proceeding of the Eighth The International Symposium 1984 (ed. M Richard). *KLoeltz Scientific Books*: 757-766.
- Setiawan, S., Sari, M., dan Yuliusman. 2008. Mekanisme Absorpsi CO₂ dengan Menggunakan Fitoplankton. *Jurnal Ilmiah Bioteknologi*. 19: 115-119.
- Setyaningsih *et al.*, 2008. Ekstraksi Senyawa Anti Bakteri Dari Diatom *Chaetoceros gracilis* dengan Berbagai Metode. *Jurnal Biologi Indonesia*: 23-33.
- Sharma. Y.C., Singh. B. 2008. Advancements in Development and Characterization of Biodiesel: A Review. *Fuel*. 87: 2355-2373.
- Sheehan *et al.* 1998. *A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program Biodiesel from Algae*. National Renewable Energy Laboratory.
- Sheng J., Vannela R., Rittmann BE. 2011. Evaluation of Methods to Extract and Quantify Lipids from *Synechocystis* PCC 6803. *Bioresour Technol*. 102: 1697-1703.
- Sopandie, D. 1999. Differential Al Tolerance of Soybean Genotypes Related to Nitrate Metabolism and Organic Acid Exudation. *Comm.Ag.* 5: 13-20.
- Sriharti dan Carolina. 1995. Kualitas Algae Bersel Tunggal *Chlorella* sp. pada Berbagai Media. *Seminar Ilmiah Hasil Penelitian dan Pengembangan Bidang Fisika Terapan*. Balai Pengembangan Teknologi Tepat Guna, Puslitbang Fisika Terapan-LIPI, Subang.
- Suslick, K. S. 1988. *Ultrasounds: Its Chemical, Physical and Biological Effects*. New York: VHC Publishers.
- Uduman, N., Qi, Y., Danquah, K., 2010. Dewatering of Microalgal Cultures: A Major Bottleneck to Algae-Based Fuels. *Journal of Renewable Energy*. 2:1-15.
- Welch EB. 1980. *Ecological Effect of Waste Water*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Widianingsih, Hartati R, H Endrawati, Yudiati E & Iriani VR. 2011. Pengaruh Pengurangan Konsentrasi Nutrien Fosfat dan Nitrat Terhadap Kandungan Lipid Total *Nannochloropsis oculata*. *Jurnal Ilmu Kelautan*. 16: 24-29.
- Widianingsih, Ridho A, Hartati R & Harmoko. 2008. Kandungan Nutrisi *Spirulina platensis* yang dikultur pada Media yang Berbeda. *Jurnal Ilmu Kelautan*. 13: 167-170.
- Widodo dan Suadi. 2006. *Pengelolaan Sumberdaya Perikanan Laut*. Yogyakarta.
- Winarso, S. 2005. *Kesuburan Tanah Dasar Kesehatan dan Kualitas Tanah*. Yogyakarta: Gava Media.
- Wirahadikusumah, Muhammad. 1985. *Biokimia: Metabolisme Energi, karbohidrat dan Lipid*. Bandung: ITB-Press